



TITLE:

BMS-708163 and Nilotinib restore synaptic dysfunction in human embryonic stem cell-derived Alzheimer's disease models( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Nishioka, Hisae

---

CITATION:

Nishioka, Hisae. BMS-708163 and Nilotinib restore synaptic dysfunction in human embryonic stem cell-derived Alzheimer's disease models. 京都大学, 2018, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2018-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20811>

RIGHT:

京都大学	博士（医 科 学）	氏 名	西 岡 尚 恵
論文題目	BMS-708163 and Nilotinib restore synaptic dysfunction in human embryonic stem cell-derived Alzheimer’ s disease models（BMS-708163 と Nilotinib はヒト胚性幹細胞由来アルツハイマー病モデル細胞におけるシナプス機能障害を改善させる）		
（論文内容の要旨）			
<p>アルツハイマー病（Alzheimer’s disease、AD）は患者数の最も多い認知症であり、AD の予防や根治治療の確立は喫緊の課題となっている。近年、AD 患者由来のヒト iPS 細胞（AD-iPS 細胞）株が樹立され、新薬探索や疾患メカニズムの解明に役立つと期待されている。しかし、AD の原因の一つと考えられている Amyloid-<math>\beta</math>（A<math>\beta</math>）42 と A<math>\beta</math>40 の相対比（A<math>\beta</math>42/A<math>\beta</math>40）の上昇を示す AD-iPS 細胞由来神経細胞は報告されているが、シナプス機能障害を示す AD-iPS 細胞由来神経細胞は未だ報告されていない。近年、遺伝子組換えにより変異型 Presenilin1（PS1）を過剰発現するヒト胚性幹細胞から分化誘導した神経細胞（変異型 PS1 神経細胞）が、A<math>\beta</math>42/A<math>\beta</math>40 比と A<math>\beta</math>43/A<math>\beta</math>40 比の上昇に加え、自発性興奮性シナプス後電流（spontaneous excitatory postsynaptic current、sEPSC）頻度の減少を示すことを報告した。変異型 PS1 神経細胞はシナプス機能障害を示す点から、AD の研究発展や新薬探索に大いに期待できる。</p> <p>本研究では、まず変異型 PS1 神経細胞に起こるシナプス機能障害の原因の探索を行った。変異型 PS1 神経細胞と野生型 PS1 神経細胞のシナプス画分における代表的なシナプス関連タンパク質の発現量を比較した結果、変異型 PS1 神経細胞のシナプス画分では RAB3A と SV2B タンパク質の発現量が減少していた。神経伝達物質の放出に関わるタンパク質 RAB3A と SV2B の減少は、変異型 PS1 神経細胞のシナプス機能障害の原因に関与するものと考えられる。</p> <p>A<math>\beta</math> ペプチドは Amyloid precursor タンパク質がセクレターゼによる切断を受けることで産生され、凝集性の高い A<math>\beta</math>42 や A<math>\beta</math>43 等を含むオリゴマーが神経機能障害を引き起こすものと考えられる。そこで、変異型 PS1 神経細胞の A<math>\beta</math> 産生を抑制すれば、シナプス機能を回復させることができるかもしれないと考えた。この仮説を調べるために、A<math>\beta</math> 産生または分泌を抑制する化合物（A<math>\beta</math> 阻害剤）のスクリーニング系を構築し、FDA 承認薬及び既知化合物 2408 種の化合物ライブラリーを用いて、A<math>\beta</math> 阻害剤の同定を行った。その結果、既知の A<math>\beta</math> 阻害剤である <math>\gamma</math>-セクレターゼ阻害剤に関してはライブラリー中に含まれる 6 種類全てを同定し、また新たに A<math>\beta</math> 阻害効果を示す低分子化合物 95 種類（HMG-CoA 還元酵素阻害剤等）を同定する事が出来た。</p> <p>次に、同定された化合物のうち <math>\gamma</math>-セクレターゼ阻害剤の代表的な既知化合物 2 種類（DAPT、BMS-708163）と、新たに A<math>\beta</math> 阻害効果を示した化合物からターゲットの異なる 5 種類（Nilotinib、Pimecrolimus、Rosuvastatin Calcium、Sulconazole nitrate salt、Toremifene Base）を選び、変異型 PS1 神経細胞に投与し、RAB3A と SV2B タンパク質発現量の減少が回復するかどうか調べた。その結果、BMS-708163 と Nilotinib により RAB3A と SV2B タンパク質両方の発現量低下が抑制された一方、Pimecrolimus では SV2B タンパク質発現量のみ減少を抑えることが示された。A<math>\beta</math> 阻害効果を示したその他の化合物については、RAB3A と SV2B タンパク質共に発現量の減少は回復しなかった。次に、変異型 PS1 神経細胞のシナプス機能障害への効果を調べた結果、BMS-708163 もしくは Nilotinib を投与すると sEPSC 頻度の低下が抑制された一方で、Pimecrolimus を投与した場合、sEPSC 頻度は低いままだった。</p> <p>以上の結果から、変異型 PS1 神経細胞におけるシナプス機能障害を抑制する化合物を同定するためには、従来の A<math>\beta</math> 阻害効果を指標とするスクリーニングだけでは不十分であり、シナプス関連タンパク質である RAB3A と SV2B の発現量の減少抑制や sEPSC 頻度の回復が重要である事が明らかとなった。本研究において構築した変異型 PS1 神経細胞を用いた RAB3A と SV2B タンパク質の発現量および sEPSC を指標とするスクリーニング系は、新たな AD 治療候補薬の同定を進める上で、非常に有用な手法となることが期待される。今後、変異型 PS1 神経細胞を用いて A<math>\beta</math> 産生阻害と RAB3A および SV2B タンパク質発現並びにシナプス機能障害の回復がどのようなメカニズムで起こるか、その分子基盤を明らかにすることが重要である。</p>			

（論文審査の結果の要旨）

アルツハイマー病（AD）は認知症の中で最も罹患数の多い疾患であるが、根治的な治療法は確立されていない。近年、AD 患者由来のヒト iPS 細胞株から分化誘導した神経細胞を用いて様々な研究が進められているが、AD の病態の一つであるシナプス機能障害を示す神経細胞を用いた創薬スクリーニングは報告されていない。

本研究では、変異型 Presenilin1（PS1）を恒常的に過剰発現するヒト胚性幹細胞に由来する神経細胞（変異型 PS1 神経細胞）を用いて、AD 治療薬候補の化合物スクリーニング系を構築した。変異型 PS1 神経細胞の特徴は、Amyloid  $\beta$ （A $\beta$ ）42/A $\beta$ 40 比、A $\beta$ 43/A $\beta$ 40 比の上昇、シナプス関連タンパク質である RAB3A と SV2B 発現量減少および自発性興奮性シナプス後電流（sEPSC）の頻度低下である。これら 3 つの指標を組み合わせて低分子化合物のスクリーニングを行った結果、BMS-708163 と Nilotinib が変異型 PS1 神経細胞に対して A $\beta$  の産生を抑制し、RAB3A と SV2B タンパク質の発現量減少を抑制し、更に sEPSC 頻度の低下も回復することを報告した。

以上の研究は、変異型 PS1 神経細胞のシナプス機能障害について RAB3A と SV2B タンパク質の発現量の減少を明らかにしたことで AD の病態解明に貢献するだけでなく、両シナプス関連タンパク質の発現量と sEPSC を指標とした低分子化合物スクリーニングが AD 治療薬候補の同定に有用であることを示したことから、今後の医学研究や創薬研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 11 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：                      年                      月                      日   以降